

SÉRIE A, N° 789
N° D'ORDRE :
815

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

ZEEV MOLOSTER

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'IDENTIFICATION DES COLORANTS
PAR CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER. DIFFÉRENTES
APPLICATIONS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 20 décembre 1957 devant la Commission d'examen.

MM. PRÉVOST	<i>Président.</i>
NORMANT	} <i>Examineurs.</i>
M. JULIA	

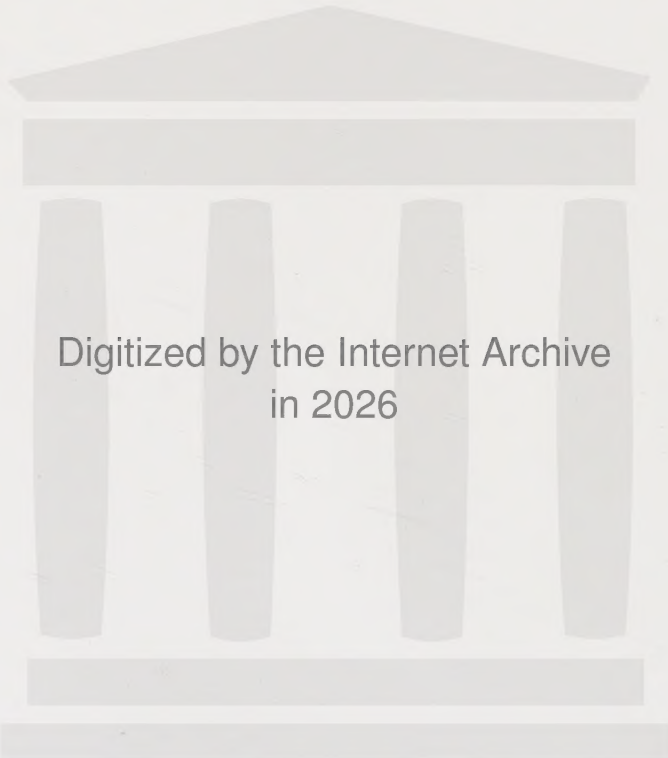
PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

—
1958



Digitized by the Internet Archive
in 2026

SÉRIE A, N° 789
N° D'ORDRE :
815

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

PAR

ZEEV MOLOSTER

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'IDENTIFICATION DES COLORANTS
PAR CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER. DIFFÉRENTES
APPLICATIONS.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 20 décembre 1957 devant la Commission d'examen.

MM. PRÉVOST	<i>Président.</i>
NORMANT	} <i>Examineurs.</i>
M. JULIA	

PARIS
MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1958

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

Doyen J. PÉRÈS.

PROFESSEURS

G. JULIA	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	TRILLAT	T	Microscopie et diffrac- tion électronique.
FOCH	T	Mécanique physique et expérimentale.	WIEMANN	T	Chimie organique et structurale.
PAUTHENIER	T	Électrotechnique génér.	JACQUINOT	T	Spectroscopie et Physi- que céleste.
DE BROGLIE	T	Théories physiques.	VASSY	T	Physique de l'atmo- sphère.
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées.	DESTOUCHES		Théories physiques.
GARNIER	T	Géométrie supérieure.	M. PRUVOST	T	Géologie.
PÉRÈS	T	Mécanique des fluides et applications.	AMIEL	T	Chimie (P.C.B.).
LAUGIER	T	Physiologie générale.	HOCART	T	Minéralogie.
M. CURIE	T	Physique (P.C.B.).	J.-P. MATHIEU	T	Physique (P.C.B.).
BARRABÉ	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.	COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.)
G. DARMOIS	T	Calcul des probabilités et Physique mathéma- tique.	MAY	T	Biologie animale (P.C.B.)
J. BOURCART	T	Géographie physique et Géologie dynamique.	CHROQUET	T	Calcul diff. et intégral.
PLANTÉFOL	T	Botanique.	FELDMANN	T	Biologie (P.C.B.).
GRASSÉ	T	Évolution des êtres orga- nisés.	GUINIER	T	Physique (P.C.B.).
PRÉVOST	T	Chimie organique.	JOST	T	Biologie (P.C.B.).
BOULIGAND	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	FORTET	T	Calcul des probabilités.
CHAUDRON	T	Chimie appliquée.	SCHWARTZ	T	Méthodes mathématiques de la Physique.
WYART	T	Minéralogie.	CHOUARD	T	Physiologie végétale.
TEISSIER	T	Zoologie.	MALAVARD	T	Aviation.
MANGENOT	T	Biologie végétale.	BRELAT	T	Calcul différentiel.
P. AUGER	T	Physique quantique et Relativité.	NORMANT	T	Chimie (P.C.B.).
MONNIER	T	Physiologie des fonctions.	BÉNARD	T	Chimie (P.C.B.).
PIVETEAU	T	Géologie.	BUVAT	T	Botanique (E.N.S.).
ROCARD	T	Physique (E.N.S.).	DUGUÉ	T	Statistiques mathéma- tiques.
H. CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.).	GELOSO		Chimie (S.P.C.N.).
LAFFITTE	T	Chimie générale.	SOULATRAZ	T	Psychophysiologie.
FAVARD	T	Mécanique générale.	ULRICH	T	Physiologie végétale.
COULOMB	T	Physique du Globe.	MARÉCHAL	T	Optique théorique et appliquée.
M ^{lle} COUSIN	T	Biologie animale (P.C.B.)	KIRRMANN	T	Théories chimiques.
CHRÉTIEN	T	Chimie minérale.	CHADEPAUD		Botanique.
P. DRACH	T	Zoologie.	DESTRIAU	T	Physique (M.P.C.).
KASTLER	T	Physique.	M ^{lle} LE BRETON		Physiologie générale.
EPHRAÏM	T	Génétique.	SALEM	T	Mathématiques générales.
WURMSER	T	Biol. physico-chimique.	LELONG	T	Mathématiques générales.
RIVIÈRE	T	Géologie (S.P.C.N.).	DEVILLERS		Anatomie et Histologie comparées.
GAUTHIERET	T	Biologie végétale (P.C.B.)	EHRESMANN	T	Topologie algébrique.
LUCAS	T	Recherches physiques.	FRANÇON		Physique (M.P.C.).
A. THOMAS	T	Biologie cellulaire.	GLANGEAUD	T	Géographie physique et Géologie dynamique.
ARNULF	T	Optique appliquée.	GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.).
M. MORAND	T	Physique.	PISOT	T	Calcul des probabilités.
SOLEILLET	T	Physique.	E. ROCHE		Géologie.
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des fluides.	SCHATZMANN		Astrophysique.
DANJON	T	Astronomie.	TERMIER	T	Paléontologie stratigra- phique.
FROMAGEOT	T	Chimie biologique.	ZAMANSKY	T	Mathématiques générales.
LAPORTE	T	Physique générale et Radioactivité.	JOLLIOT	T	Physique nucléaire et Radioactivité.
JANET	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	LENNUIER		Physique (P.C.B.).
PETIT	T	Biologie maritime.	RIZET		Génétique.
QUENEY	T	Météorologie et dynami- que atmosphérique.	M ^{me} TONNELAT		Théories physiques.
GALLIEN	T	Embryologie.	DIXMIER		Mathématiques (M.P.C.).
EICHORN	T	Biologie végétale (P.C.B.)	SOUCRAY		Chimie (P.C.B.).
DE CUGNAC	T	Biologie végétale (P.C.B.)	AGRAIN		Physique (P.C.B.).
M ^{lle} CAUCHOIS	T	Chimie physique.	BRUSSET		Chimie (P.C.B.).
THELLIER	T	Physique du Globe.	M. LÉVY		Physique théorique.
L'HÉRITIÉ	T	Génétique.	LENORMANT		Physiologie.
GRIVET	T	Radioélectricité.	M ^{me} CHAIX		Chimie biologique.
PONCIN	T	Mécanique des fluides.	M ^{me} HUREL-PY		Biologie végétale (P.C.B.)
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des nombres.	PIAUX		Chimie (P.C.B.).
QUELET	T	Chimie organique.	ERUN		Mécanique expérimentale des fluides.
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée.	LEDERER		Chimie biologique.
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculai- re.	M ^{me} DUBREIL-JACO- TIN		Mathématiques.
CUVILLIER	T	Géologie structurale et Géologie appliquée.	M ^{me} LÉLONG - FER- RAND		Mathématiques (E.N.S.).
JUNG	T	Pétrographie.	BELLAIR		Géologie (S.P.C.N.).
			COTTE	T	Physique (M.P.C.).
			J.-E. DUBOIS		Chimie.
			LAMOTTE		Zoologie.
			LE ROLLAND		Mécanique des fluides.
			MICHEL		Chimie (P.C.B.).
			OLMER	T	Énergétique générale.

Secrétaire Général Ch. MONIER.

JE DÉDIE CETTE THÈSE

A MES PARENTS

A MA FEMME

A TOUS LES MIENS

AVANT-PROPOS

Ce travail nous offre l'opportunité d'exprimer notre gratitude à tous ceux qui nous ont permis de le réaliser.

Nous voulons rappeler, en premier lieu, le Professeur Ch. Sannié qui nous permit de travailler sous sa direction, dans ses laboratoires du Muséum, et qui guida nos travaux avec tant de compétence. Sa disparition nous enleva le conseiller bienveillant dont l'aide nous fut si précieuse. C'est avec une profonde émotion que nous évoquons son souvenir. A sa mémoire nous adressons l'hommage de nos pensées émues et reconnaissantes.

Nous exprimons notre gratitude à M. M. Frèrejaque, sous-directeur du Muséum, qui voulut bien, ensuite, s'intéresser à notre travail et eut la grande obligeance de lire et corriger notre thèse.

Nous remercions aussi tous ceux du laboratoire qui facilitèrent notre travail et, en particulier, M. H. Lapin qui s'intéressa à nos recherches.

Nous tenons également à remercier respectueusement M. le Professeur Ch. Prévost, pour nous avoir fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Nous adressons l'hommage respectueux de notre vive gratitude à M. le Professeur H. Normant qui nous a témoigné beaucoup de bienveillance et à M. le Professeur M. Julia qui a bien voulu faire partie de notre jury.

Nous ne pouvons non plus oublier les collaborateurs du Professeur Sannié, à l'Identité Judiciaire, et surtout Mme Pougheon, Ingénieur Chimiste, et M. Gauvert dont l'aide nous fut si précieuse.

Nous adressons aussi nos témoignages de reconnaissance à tous ceux qui mirent à notre disposition les nombreuses matières colorantes :

M. le Professeur L. Denivelle, Directeur du Laboratoire de Chimie Tinctoriale au Conservatoire National des Arts et Métiers et M. M. Ringissen, sous-directeur du laboratoire.

La Société Ciba à Paris, et tout particulièrement M. L. Robitaille, ainsi que la Société Francolor.

CONTRIBUTION A L'IDENTIFICATION DES COLORANTS PAR CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER. DIFFÉRENTES APPLICATIONS (*)

Par ZEEV MOLOSTER

LA CHROMATOGRAPHIE

Il semble que la chromatographie à ses débuts soit née de pratiques empiriques utilisées dans l'industrie de la teinture.

Les teinturiers contrôlaient l'intensité et la qualité d'un bain de teinture en mettant une goutte de liquide sur des matières absorbantes telles que du papier ou des tissus, et observaient les cercles concentriques correspondant aux différents constituants du colorant, qui se formaient autour de la goutte.

Le premier qui a étudié sérieusement ce phénomène a été F. F. Runge. Dans ses travaux publiés en 1850 ⁽¹⁾ et en 1855 ⁽²⁾ il a constaté que la plupart des cations inorganiques pouvaient être séparés par leurs migrations différentes, quand leurs solutions étaient entraînées à travers du papier-filtre ou d'autres matériaux poreux.

F. F. Goppelsröder ⁽³⁾ nous parle d'analyse capillaire dans ses travaux en 1888. Il a examiné le comportement de mélanges de colorants sur des bandes de papier-filtre Suède, en trempant la partie inférieure du papier maintenu verticalement dans une solution aqueuse ou alcoolique des colorants. Le liquide s'élève par capillarité dans le buvard et la teinte jusqu'à une certaine hauteur. En travaillant avec un mélange d'acide picrique et de curcuma il a obtenu trois différentes

(*) Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris pour obtenir le titre de docteur de l'Université et soutenue le 20 décembre 1957 devant la commission d'examen.

(1) F. F. RUNGE, *Farbenchemie*, 1850.

(2) F. F. RUNGE, *Bildungstrieb der Stoffe*, 1855.

(3) F. GOPPELSRÖDER, *Journal of Society of Dyers and Colourists*, 1888, 5.

zones : une zone aqueuse supérieure, une zone d'acide picrique au milieu, et en bas la couleur jaune de curcuma. En immergeant la bande obtenue dans une solution diluée de KOH, la zone de l'acide picrique a complètement disparue et le curcuma a viré au rouge brun. Il a séparé ainsi l'acide picrique du curcuma.

Goppelsröder a eu le mérite d'introduire la notion particulièrement intéressante qui nous est connue aujourd'hui sous le nom R_F .

Un autre, parmi les premiers chercheurs dans le domaine de la chromatographie sur papier a été G. F. Schoenbein, qui s'est inspiré largement, comme d'ailleurs Goppelsröder, des travaux de Runge.

En 1897, Day ⁽⁴⁾ a établi que le pétrole brut pouvait être purifié par passage à travers de la chaux pulvérisée ou autres adsorbants et des impuretés pouvaient de ce fait être fractionnées.

Dans de nombreux pays, les chimistes du pétrole se sont rendus rapidement compte de l'importance des travaux de Day.

Engler et Albert, vers 1907, utilisent une colonne spéciale contenant du charbon de bois, leur permettant de recueillir séparément chaque fraction du filtrat et de l'étudier par la mesure de son point d'ébullition, de sa densité et de sa viscosité.

Mais le promoteur de la chromatographie est sans doute le botaniste M. Tswett, dont les premiers travaux furent publiés en 1903 et 1906 ⁽⁵⁾ ⁽⁶⁾. En faisant passer à travers une colonne de carbonate de calcium pulvérisé, le liquide d'épuisement de feuilles vertes (dans l'éther de pétrole) il observa une séparation qui se produisit au bout d'un très court trajet. Tandis que le solvant se décolore et continue à parcourir la colonne, l'ensemble des pigments est retenu près du haut de la colonne, sous forme d'un anneau. En ajoutant de l'éther de pétrole pur sur la colonne, l'anneau se décompose en une série de zones annulaires distinctes, de différentes teintes, et qui avancent avec des vitesses diverses. A cette méthode de fractionnement d'un mélange complexe en ses éléments, Tswett donna le nom de chromatographie.

C'est en 1931, que Kuhn et Lederer ⁽⁷⁾, grâce aux travaux de Tswett, ont réussi à séparer des carotènes et xanthophylles sur des colonnes d'alumine et de carbonate de calcium en coupant la colonne à la hauteur des différentes zones, après le développement.

En 1938, Steiger et Reichstein ⁽⁸⁾ ont introduit le chromatogramme liquide, qui a permis le fractionnement de produits incolores ; il consiste à laver la colonne à l'aide d'une série de solvants d'un pouvoir éluant de plus en plus fort et de recueillir séparément chaque filtrat.

(⁴) DAY, *Roc. Am. Phil. Soc.*, 1897, **36**, 112.

(⁵) M. TSWETT, *Trav. Soc. Nat. Varsovie*, 1903, 14.

(⁶) M. TSWETT, *Ber. Deu. Bot. Ges.*, 1906, **24**, 384.

(⁷) R. KUHN et E. LEDERER, *Naturwissenschaften*, 1931, **19**, 306.

(⁸) M. STEIGER et T. REICHSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 1938, **21**, 546.

Entre 1940-1943, Tiselius ⁽⁹⁾ ⁽¹⁰⁾ ⁽¹¹⁾ ⁽¹²⁾ ⁽¹³⁾ ⁽¹⁴⁾ ⁽¹⁵⁾ a développé une méthode chromatographique connue sous le nom « d'analyse frontale » où le mélange à séparer est utilisé comme propre substance de déplacement. Les fractions des liquides sont recueillies en évitant soigneusement leur mélange, et sont ensuite étudiées par des méthodes optiques.

C'est aussi Tiselius ⁽¹⁶⁾ et plus tard S. Claesson ⁽¹⁷⁾ qui ont introduit la technique de l'analyse par développement. Elle consiste à séparer les composés à l'aide d'éluants qui sont beaucoup plus absorbés par l'adsorbant que les composés mêmes. Les éluants se fixent sur l'adsorbant en même temps qu'ils déplacent et libèrent les composés adsorbés antérieurement.

La chromatographie de partage a été introduite par Martin et Synge en 1941 ⁽¹⁸⁾. Le principe de la méthode consiste à filtrer une solution des substances à séparer sur une colonne d'un support solide imbibé d'un autre solvant, non miscible avec le premier.

La chromatographie de partage sur papier a été mise au point en 1944 par Consden, Gordon et Martin ⁽¹⁹⁾.

Cette dernière méthode a trouvé de nombreuses applications et donné des résultats étonnants car elle permet avec une technique très simple, la séparation de très petites quantités de substances.

Limitée au début aux acides aminés ⁽¹⁾ elle fut plus tard appliquée aux sucres ⁽²⁰⁾, alcaloïdes ⁽²¹⁾ ⁽²²⁾ ⁽²³⁾ ⁽²⁴⁾ ⁽²⁵⁾, anthocyanidines ⁽²⁶⁾, antibiotiques ⁽²⁷⁾, sapogénines ⁽²⁸⁾, éléments minéraux ⁽²⁹⁾ ⁽³⁰⁾, enzymes ⁽³¹⁾, stéroïdes ⁽³²⁾, etc.

⁽⁹⁾ A. TISELIUS, *Arkiv kemi Mineral. Geol.*, 1940, **14** B, n° 22.

⁽¹⁰⁾ A. TISELIUS, *Ibid.*, 1941, **14** B, n° 32.

⁽¹¹⁾ A. TISELIUS, *Ibid.*, 1941, **15** B, n° 6.

⁽¹²⁾ A. TISELIUS, *Science*, 1941, **94**, 145.

⁽¹³⁾ A. TISELIUS, *Advances in Colloid Sci.*, 1941, **1**, 81.

⁽¹⁴⁾ TISELIUS, *Kolloid Z.*, 1943, **105**, 101.

⁽¹⁵⁾ A. TISELIUS, *Advances in Colloid Sci.*, 1942, **1**, 81.

⁽¹⁶⁾ A. TISELIUS, *Arkiv kemi Mineral Geol.*, 1943, **16** A, n° 18.

⁽¹⁷⁾ S. CLAESSON, *Discussions Faraday Soc.*, 1949, **34**, n° 7.

⁽¹⁸⁾ A. J. P. MARTIN et R. L. M. SYNGE, *Biochem. J.*, 1941, **35**, 1358.

⁽¹⁹⁾ R. CONSDEN, A. H. GORDON et A. J. P. MARTIN, *Biochem. J.*, 1944, **38**, 224.

⁽²⁰⁾ S. M. PARTRIDGE, *Biochem. J.*, 1948, **42**, 238.

⁽²¹⁾ F. McDONALD et JONES, *J. Pharm. Pharmacol.*, 1949, **1**, 802.

⁽²²⁾ MACHEBOEUF, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1949, **31**, 1144.

⁽²³⁾ MACHEBOEUF, *C. R. Ac. Sci.*, 1950, **230**, 1177.

⁽²⁴⁾ SVENDSEN, *Pharm. Act. Helv.*, 1950, **25**, 230.

⁽²⁵⁾ BRINDLE, CARLESS et WOODHEAD, *J. Pharm. Pharmacol.*, 1951, **3**, 793.

⁽²⁶⁾ C. BATHE-SMITH et R. G. WESTALL, *Biochim. Biophys. Acta*, 1950, **4**, 427.

⁽²⁷⁾ GLISTER et GRAINGER, *Analyst*, 1950, **75**, 310.

⁽²⁸⁾ Ch. SANNIÉ, HEITZ et LAPIN, *C. R. Ac. Sci.*, 1951, **233**, 1670.

⁽²⁹⁾ POLLARD et McOMIE, *Endeavour*, 1951, **10**, 213.

⁽³⁰⁾ POLLARD, McOMIE et ELBEITH, *J. Chem. Soc.*, 1951, **466**, 74.

⁽³¹⁾ PRASAD et GIRI, *Nature (London)*, 1951, **168**, 786.

⁽³²⁾ NEHER et WETTSTEIN, *Helv. Chim. Acta*, 1952, **35**, 276.

Le principe de cette méthode, très différent de celui de la chromatographie sur alumine ou autres adsorbants, est basé sur l'emploi des coefficients de partage et non sur une absorption sélective.

Déposons sur un papier-filtre de structure fine et homogène, une goutte de deux ou plusieurs substances en solution, puis après dessiccation, plongeons ce papier dans un mélange de solvants. Le liquide va imbiber progressivement le papier par capillarité et lorsqu'il rencontrera les substances déposées sur ce dernier, les entraînera avec lui. Mais cet entraînement est sélectif, de telle sorte que le déplacement de chaque substance étant différent, celles-ci seront séparées les unes des autres et pourront être aisément identifiées en pulvérisant sur le papier un réactif convenable, qui révèle la position atteinte par chacune d'elles. Pour les colorants, une telle révélation est inutile, sauf dans des cas spéciaux, que nous verrons plus tard.

La chromatographie sur papier peut se faire *per ascensum* (comme décrit ci-dessus), elle peut être descendante, en faisant descendre le solvant et peut s'effectuer en deux dimensions.

Cette dernière façon d'opérer consiste à développer le papier avec un premier solvant, à le sécher, puis avec un deuxième solvant, à développer dans une direction perpendiculaire à la première.

En 1948, L. Ruter ⁽³³⁾ a décrit pour la première fois la chromatographie circulaire sur papier, dont les détails ont été publiés en 1950 ⁽³⁴⁾. Elle consiste à obtenir des bandes concentriques, sur un papier-filtre de forme circulaire placé entre deux plaques de verre dont l'une est percée au centre d'un orifice pour l'arrivée du solvant de développement.

Si la chromatographie descendante permet la séparation des substances à faible R_F (rapport des distances parcourues par la substance et par le solvant) la chromatographie ascendante est plus simple du point de vue de l'appareillage, et peut être mise en œuvre dans n'importe quel laboratoire, en donnant d'excellents résultats.

La plupart des travaux connus sur la chromatographie des colorants sur papier, ont été faits par la méthode ascendante : c'est cette méthode que nous avons utilisée.

Parmi les importantes études de chromatographie sur papier des colorants on citera celles de N. R. Rao, K. H. Shah et K. V. Venkataraman ⁽³⁵⁾ qui ont séparé différents colorants acides, basiques et directs. M. Lederer ⁽³⁶⁾ a chromatographié des indicateurs et des

⁽³³⁾ L. RUTER, *Nature*, 1948, **161**, 435.

⁽³⁴⁾ L. RUTER, *Analyst*, 1950, **75**, 37.

⁽³⁵⁾ N. P. RAO, K. H. SHAH et K. VENKATARAMAN, *Current Sci. (India)*, 1950, **19**, 149.

⁽³⁶⁾ M. LEDERER, *Science*, 1950, **112**, 504.

colorants dérivés de l'acridine ⁽³⁷⁾, M. Zahn ⁽³⁸⁾ a analysé des colorants pour laine ; G. Seris ⁽³⁹⁾ a chromatographié des colorants alimentaires en employant la chromatographie sur papier et celle sur colonne. D. H. Tilden a publié en 1952 ⁽⁴⁰⁾ une liste de 27 solvants différents qu'il a employés pour l'identification des colorants alimentaires. Plus tard ⁽⁴¹⁾ Tilden a comparé par la spectrophotométrie les courbes d'absorption des colorants isolés par chromatographie et celles des colorants connus et a trouvé qu'elles sont identiques.

G. Berile, M. Stein et E. Pascucci ⁽⁴²⁾ ont chromatographié 19 colorants alimentaires. En 1953, Y. Ishida, N. Inagaki, A. Shiota et R. Watanabe ⁽⁴³⁾ ont chromatographié et identifié différents colorants alimentaires solubles dans l'eau.

J. R. A. Anderson et E. C. Martin ⁽⁴⁴⁾ ont chromatographié 36 colorants alimentaires et essayé d'établir une relation entre la structure des colorants monoazoïques et la valeur du R_F .

Paul Jax et H. Aust ⁽⁴⁵⁾ ont chromatographié des colorants employés pour la coloration du beurre et du fromage. H. Thaler et G. Sommer ⁽⁴⁶⁾, suggèrent un solvant standard pour tous les groupes de colorants : 2 p. 100 de citrate de sodium dans une solution de 5 p. 100 d'ammoniaque. G. Panopoulos et J. Megalidoikomos ⁽⁴⁷⁾ ont examiné la coloration artificielle du caviar rouge par l'amarante. J. Mouselise et D. Miranda ⁽⁴⁸⁾ ont chromatographié des matières colorantes artificielles dans des confitures, en employant un papier préalablement traité avec CO_2Ca .

I. Saenz Lascano Ruiz a publié en 1956 ⁽⁴⁹⁾ une étude sur l'extraction et l'identification des colorants incorporés aux aliments, en utilisant les chromatographies circulaire et ascendante.

Le même auteur a publié en 1946 et 1948 ⁽⁵⁰⁾ ⁽⁵¹⁾ ⁽⁵²⁾, des travaux sur la séparation analytique de mélanges de colorants synthétiques alimen-

⁽³⁷⁾ M. LEDERER, *Anal. Chim. Acta*, 1952, **6**, 267.

⁽³⁸⁾ H. ZAHN, *Textil Praxis*, 1951, **6**, 127.

⁽³⁹⁾ G. SERIS, *Ann. fals. et fraudes*, 1952, **45**, 110.

⁽⁴⁰⁾ D. H. TILDEN, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 1952, **35**, 423.

⁽⁴¹⁾ D. H. TILDEN, *J. Assoc. Offic. Agr. Chemists*, 1954, **37**, 812.

⁽⁴²⁾ G. BERILE, A. M. STEIN et PASCUCCI, *Ind. Ital. Conserve*, 1952, **27**, 152.

⁽⁴³⁾ Y. ISHIDA, N. INAGAKI, A. SHIOTA et R. WATANABE, *J. Pharm. Soc. Japon*, 1953, **73**, 736.

⁽⁴⁴⁾ J. R. R. ANDERSON et E. C. MARTIN, *Ann. Chim. Acta*, 1953, **8**, 530.

⁽⁴⁵⁾ Paul JAX et HELLMUT, *Aust. Milchwiss. Ber.*, **145**, 89.

⁽⁴⁶⁾ H. THALER et G. SOMMER, *Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch.*, 1953, **97**, 345.

⁽⁴⁷⁾ G. PANOPOULOS et J. MEGALDOIKOMOS, *Chim. Anal.*, 1954, **36**, 68.

⁽⁴⁸⁾ J. MOUSELISE et D. MIRANDA, *Ind. agr. et aliment.* (Paris), 1954, **71**, 223.

⁽⁴⁹⁾ SAENZ LASCANO RUIZ, *Ann. fals et fraudes*, n°s 571-572, 315-331.

⁽⁵⁰⁾ SAENZ LASCANO RUIZ, *Ind. Parfumerie*, 1946, **1**, 187.

⁽⁵¹⁾ SAENZ LASCANO RUIZ, *Chimie et Industrie*, 1946, **56**, 198.

⁽⁵²⁾ SAENZ LASCANO RUIZ, Paul CHAUVIN et H. MOUREU, *Actualités Scientifiques et Industrielles*, n° 1046, 1948.

taires, en utilisant la chromatographie sur colonne avec différents adsorbants.

Nous-même, en 1952 ⁽⁵³⁾ avons adopté la méthode d'analyse chromatographique sur papier pour l'étude des traits d'encre de textes manuscrits.

Les gouttes de colorants obtenues à partir de traits d'encre d'origines différentes étaient chromatographiées simultanément ; la position des spots obtenus et la couleur respective des différentes taches permettaient une comparaison facile des encres.

Dans ces essais les spots présentaient souvent des traînées ; ils étaient allongés. La détermination du R_F était douteuse. Ils nous permettaient cependant de différencier des encres d'origine et de composition différentes, même si nous n'étions pas capable d'identifier le colorant utilisé.

Pour que la chromatographie devienne une méthode d'analyse des matières colorantes, il fallait chercher dans quelles conditions expérimentales il était possible d'avoir pour chaque colorant un spot net, sans queue, dont le R_F serait bien établi.

C'est ce problème que nous avons tenté de résoudre et qui fait l'objet de ce travail.

CHAPITRE PREMIER

Chromatographie des colorants appartenant à des familles différentes.

Dans cette première partie de notre travail, nous étudierons les colorants pris isolément en solution.

Nous allons tout d'abord indiquer le mode opératoire très simple que nous avons utilisé.

Mode opératoire. — Nous avons adopté la méthode chromatographique ascendante et choisi après plusieurs essais, le papier Arche 302 (de préférence au papier Arche 301 et Whatman n° 1).

Pour l'étude simultanée de deux ou trois gouttes de colorants, nous découpons le papier en une bande de 30 cm de long et 5 cm de large, au bas de laquelle nous déposons le long d'une ligne horizontale au crayon, à 2 cm au-dessus du bord étroit et au moins à 1 cm des côtés, une goutte de chaque solution étudiée, en ayant soin de laisser un intervalle de

⁽⁵³⁾ Charles SANNIÉ et Zeev MOLOSTER, *Revue de Criminologie et de Police technique*, 1952, 6, n° 2.

2 cm entre chaque goutte. A l'aide d'une pince en acier inoxydable *c* (fig. 1) ou plus simplement avec deux petits crochets fixés dans le bouchon, la bande *g* est suspendue dans une large éprouvette sans bec *a* à laquelle s'adapte le bouchon *b*. Celui-ci est traversé par un entonnoir cylindrique *d* à robinet et par un tube simple à robinet *e*. On fait

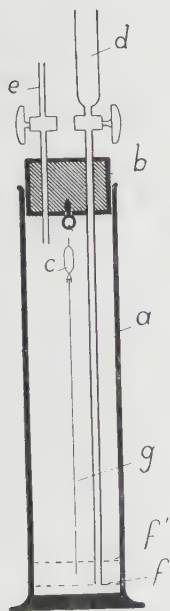


Fig. 1.

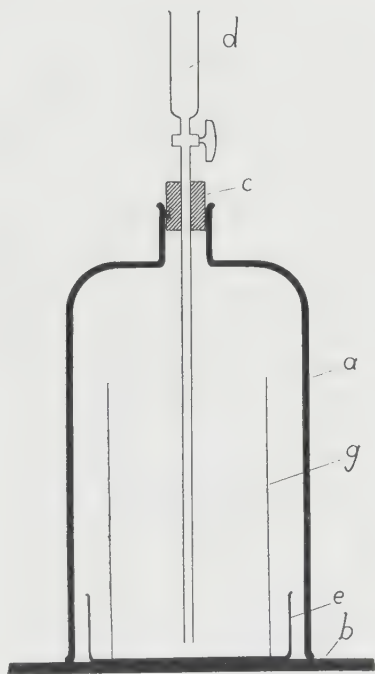


Fig. 2.

pénétrer par l'entonnoir une quantité de solvant *f*, insuffisante pour atteindre le papier.

On laisse ainsi l'atmosphère de l'éprouvette et le papier se saturer des vapeurs du solvant (mais ce n'est pas indispensable), puis on ajoute de nouveau du liquide, de telle sorte que le papier soit immergé sur une hauteur d'environ 5 mm (fig. 1), les taches devant rester au moins à 5 ou 10 mm au-dessus de la surface du solvant. Quand le liquide est mis en contact avec le bord inférieur du papier, il monte lentement par capillarité, en entraînant, plus ou moins avec lui, les colorants des taches.

Pour des essais simultanés sur plusieurs colorants, l'appareil le plus pratique est constitué par une cloche *a* en verre (fig. 2), d'un diamètre

pouvant atteindre 30-40 cm, dont le bord inférieur rodé s'adapte à une plaque de verre rodée *b*. L'ouverture supérieure est obstruée par un bouchon en liège *c* à travers lequel passe un entonnoir cylindrique *d* dont la longue tige descend presque jusqu'au fond de la cloche. Le fond de celle-ci est occupé par un large cristalliseur *e*, occupant presque toute la surface de ce fond. Les dimensions de la feuille de papier dépendent de celles de la cloche.

On pourra utiliser pour cette opération une feuille du format 40×30 cm, à bords coupés net. A 3 cm environ de son grand bord (40 cm) on trace un trait de crayon, parallèle à ce bord ; sur ce trait on marque au crayon des points tous les 2 cm environ ; c'est là que devront être déposées les gouttes, à l'aide d'une micropipette ; les deux points extrêmes doivent être au moins à 3 cm des bords verticaux.

Les gouttes de solution des colorants que l'on étudie sont ensuite déposées sur les repères situés le long de la ligne tracée au crayon, puis les taches sont séchées. La feuille de papier-filtre est alors transformée en cylindre par un agrafage avec des fils de cuivre, en ayant soin d'éviter que les bords du papier se touchent. Le cylindre ainsi formé est posé dans le cristalliseur disposé au fond de la cloche, de telle sorte que le papier ne touche pas la paroi verticale de ce cristalliseur (*g* fig. 2).

On peut ainsi introduire par l'entonnoir cylindrique la quantité de liquide nécessaire pour baigner le pied du cylindre de papier.

Si l'on désire saturer auparavant l'atmosphère de la cloche en vapeurs acides ou alcalines, on peut disposer dans le cristalliseur un vase plus petit renfermant de l'acide acétique ou chlorhydrique, ou de l'ammoniaque.

Les groupes suivants de colorants ont été étudiés :

Colorants nitrosés.

Colorants nitrés.

Colorants azoïques.

Colorants pyrazoloniques.

Colorant du diphénylméthane.

Colorants du triphénylméthane.

Colorants dérivés du xanthène.

Colorants dérivés de l'acridine.

Colorants dérivés de la quinoléine.

Colorants thiazoliques.

Colorants oxaziniques.

Colorants thiaziniques.

Colorants aziniques.

Nous travaillons avec des solutions de colorants dont la concentration varie entre 0,1-0,25 p. 100 et qui ont été préparées en dissolvant le colorant dans l'eau distillée bouillante. Les colorants solubles dans l'alcool ont été dissous dans ce dernier, à froid.

Nous pouvons utiliser des concentrations plus faibles, la limite étant imposée par la coloration de la solution. Dans tous les cas le R_f reste identique, même si on arrive à avoir 1 à 2,5 millièmes de milligramme de colorant dans la tache.

Pour chaque groupe de colorants, nous avons étudié un très grand nombre de solvants, mais dans la suite de l'exposé nous ne considérons que ceux qui ont donné les meilleurs résultats.

Les résultats obtenus seront relatés sous forme de tableaux ; la signification des abréviations et expressions employées est la suivante :

Colorant : nom du colorant.

S : le numéro qui correspond aux « Farbstofftabellen » de G. Schultz, 1931, 1932, 1934, 1939.

R : le numéro qui correspond au « Colour Index » de F. M. Rowe, 1924, 1928.

Solvant : numéro du solvant employé si on en utilise plusieurs pour un même groupe de colorants.

R_f : le rapport entre la distance parcourue par la tache (centre de la tache) et la distance parcourue par le front du solvant.

Ciba : Société pour l'industrie chimique, à Bâle.

Franicolor : Etablissement Franicolor, Paris.

St.-Denis : Société Anonyme de matières colorantes et produits chimiques de Saint-Denis.

Kuhlman et R. A. L. : Etablissements Kuhlman.

Kalle : Kalle et Co., Aktiengesellschaft in Biebrich a. Rh.
(Compagnie Parisienne de couleurs d'aniline, Creil, Oise).

M. L. B. : Farbwerke vorm. Meister Lucius Bruning im Höchst a. Main.

Bayer : Leipziger Anilinfabrik Bayer et Kegel in Furstenberg a. Oder.

S. M. C. : Société des matières colorantes de St.-Denis.

Pour les colorants de chaque groupe étudié, nous indiquerons successivement :

- la formule générale,
- le mode de formation de certains colorants,
- le nom de ceux que nous avons étudiés et dont les échantillons furent pour la plupart mis gracieusement à notre disposition par les fabricants eux-mêmes,
- enfin, le résultat de notre étude chromatographique.

Ces résultats mis sous forme de tableaux mentionnent :

- l'origine des échantillons utilisés,
 - la concentration du colorant,
 - le solvant utilisé,
 - la durée de la chromatographie,
 - le R_f de la tache obtenue (spot),
 - la couleur de la tache en lumière ordinaire et en lumière ultra-violet
- filtrée de Wood :
1. avant la chromatographie,
 2. après la chromatographie,

dans ce dernier cas il sera fait mention du changement de couleur après traitement par NaOH à 10 p. 100 et HCl à 10 p. 100.

Nous avons présenté les photographies de certains chromatogrammes, les unes ont été faites en lumière ultra-violet de Wood, les autres en lumière ordinaire.

Dans la première série, les taches des colorants sont visibles grâce à leur fluorescence ; la deuxième série ayant été faite sur film orthochromatique, à cause de la faible intensité des couleurs, seuls les contours des taches, retracés au crayon, apparaissent.

L'échelle de réduction photographique est variable selon les dimensions de chaque chromatogramme. Pour la commodité de la présentation, nous avons adopté le format 9×12 .

Colorants nitrosés. — Nous avons chromatographié le vert solide F (S-5, R-5).

Concentration du colorant : 0,2 p. 100. Les solvants employés :

1. Butanol sat. d'eau
2. Butanol sat. d'eau 95 cm³
Acide acétique pur 5

L'addition de 5 cm³ d'acide acétique au butanol saturé d'eau ne provoque aucun changement dans le chromatogramme sauf pour le R_F qui a sensiblement augmenté. La netteté du spot reste la même.

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R _F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Vert Kiton F (Ciba)	5	5	1	1,30 h	0,44	Vert	Bleu verdâtre	Verdâtre	Bleu	Incolore	Verdâtre
Id.	Id.	Id.	2	Id.	0,67	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.

Colorants nitrés. — Nous avons chromatographié les colorants suivants :

Jaune de Martius (S-18 R-19). *Acide picrique* (S-9 R-7). *Jaune naphthol S* (S-19 R-10). *Jaune naphthol NS*, le même que le précédent.

Concentration des colorants : 0,2 p. 100. Solvant employé :

1. Ethanol 80 cm³
H₂O 15 »
Ac. acétique pur 5 »

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R _F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Jaune de Martius	18	9	I	7 h	0,88	Jaune	Brun foncé	Jaune faible	Invisible	Jaune	Incolore
Acide picrique	9	7	I	Id.	0,85	Id.	Id.	Id.	Brun	Id.	Id.
Jaune naphtol S (Ciba)	19	10	I	Id.	0,58	Id.	Id.	Id.	Invisible	Id.	Id.
Jaune naphtol NS (Kuhlman)	19	10	I	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.

Le jaune naphtol S et le jaune naphtol NS (Kuhlman) ont donné le même R_F (0,58).

Tous les spots sont nets et ne présentent aucune queue.

Colorants azoïques. — Nous avons chromatographié plus d'une vingtaine de colorants, parmi lesquels des néolanes qui sont des complexes métallifères 1 : 1 (pour chaque molécule de colorant, 1 atome de chrome) et des colorants oracète, orasol et au gras qui sont pour la plupart des azoïques mais qui peuvent être aussi des anthraquinoniques.

Nous avons employé trois solvants différents :

1. H ₂ O	60 cm ³
Alc. isopropylique	30 "
Ac. acétique pur	5 "
2. Alcool propylique	50 "
H ₂ O	30 "
Ammoniaque	20 "
3. H ₂ O	60 "
Alc. éthylique	25 "
Acétate d'éthyle	15 "

Le solvant 3 est valable seulement pour les colorants oracète, orasol et au gras.

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R _F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Brun néo-lane GRM (Ciba)			I	1,30 h	0,81	Brun	Brun foncé	Brun clair	Brun foncé	Brun rougeâtre	Brun
Vert néo-lane BF (Ciba)			I	1,30 h	0,62	Vert	Vert	Verdâtre	Bleuâtre	Vert	Vert
Vert néo-lane BF (Ciba)			I	5 h	0,53	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>
Rose néo-lane BE (Ciba)			I	1,30 h	0,65		Rougeâtre	Rose violacé	Rose	Rose	Rose
Rose néo-lane BE (Ciba)			I	5 h	0,44	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>
Orange Kiton solide G (Ciba)	39	27	I	1,30 h	0,86	Orange	Brun orangé	Orange	Orange foncé	Violet pâle	Orange
Méthyl orange	176	142	I	1,30 h	0,70	Jaune	Brun	Rose	Orange	Jaune	Rouge foncé
Ponceau PR (Francolor)			I	1,30 h	0,83	Rose lilas	Rouge foncé	Jaune	Jaune foncé	Orange	Rose
Rouge néo-lane BRE (Ciba)			I	1,30 h	0,82	Rose lilas	Rouge foncé	Rouge brun	Rose	Rose jaunâtre	Rose
Rouge néo-lane BRE (Ciba)			I	5 h	0,78	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	<i>Id.</i>
Jaune néo-lane BE (Ciba)			I	1,30 h	0,96	Jaune	Jaune brunâtre	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune
Bleu néo-lane 2R (Ciba)			I	1,30 h	0,51	Bleu	Bleu foncé	Bleuâtre	Bleuâtre	Violet	Bleu

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R _F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Rouge Kition solide G double conc. (Ciba)	40	31	1	1,30 h	0,68	Rouge	Rouge foncé	Rouge	Rouge violacé	Jaune	Rouge foncé
Chrysoïdine J (Francolor)	27	20	2	7,50 h	0,90	Orange	Faible orange	Jaune orange	Faible orange	Jaune	Brunâtre
Rouge chlorantine 8 BN (Ciba)	425	436	2	7,50 h	0,49	Rose violacé	Rouge violacé	Rose clair	Invisible	Rose	Rose
Brun Bismark R. A. L.	318	331	2	7,50 h	0,26 0,67	Brun	Brun foncé	Brunâtre	Brunâtre	Brun jaunâtre	Brun
Crocéine brillante (Francolor)	539	252	2	7,50 h	0,95	Rouge	Rouge foncé	Rose	Rose violacé	Violacé	Rouge
Naphtol 3B (Francolor)	604	115	2	7,50 h	0,45 0,74	Bleu	Bleu foncé	Bleuâtre	Invisible	Bleu violacé	Bleu violacé

Dans le tableau ci-dessus on peut voir que la durée de la chromatographie a une grande influence sur le R_F. Les chromatogrammes du vert néolane, rose néolane et rouge néolane ont été faits exactement dans les mêmes conditions. Seul le temps a varié : 1,30 h et 5 heures.

Dans les trois cas le R_F a diminué avec l'accroissement du temps.

Le brun Bismark chromatographié, présente deux spots très nets, avec deux R_F différents : 0,26 et 0,67.

Le noir naphtol 3B, lui aussi donne deux spots : R_F — 0,45 et 0,74 dont l'un (0,45) est d'intensité très faible, mais peut être vu par transparence du papier.

La chromatographie des colorants orasol, oracète et au gras, a présenté beaucoup de difficultés. Un grand nombre d'essais ont été faits avec différents solvants, mais dans tous les cas, les colorants ont fait des traînées ou ont monté jusqu'au front du solvant.

Un mélange de 60 cm³ d'eau avec 40 cm³ d'alcool éthylique a donné les premiers résultats satisfaisants, mais le solvant 3 a donné les meilleurs résultats.

Nous présentons ci-dessous les photographies, en lumière normale, des chromatogrammes des colorants orasol, oracète et au gras.

Durée des chromatographies : 2,15 h (fig. 3) et 6 heures (fig. 4).



Fig. 3.

Les colorants sont numérotés de 1 à 10 dans l'ordre suivant :

1. Jaune au gras R.
2. Jaune orasol GRW.
3. Brun au gras 6577N.
4. Orange orasol 2RW.
5. Violet orasol 3R.
6. Rouge au gras 7B.
7. Rouge orasol B.
8. Violet oracète R.
9. Bleu au gras B.
10. Rubis oracète R.

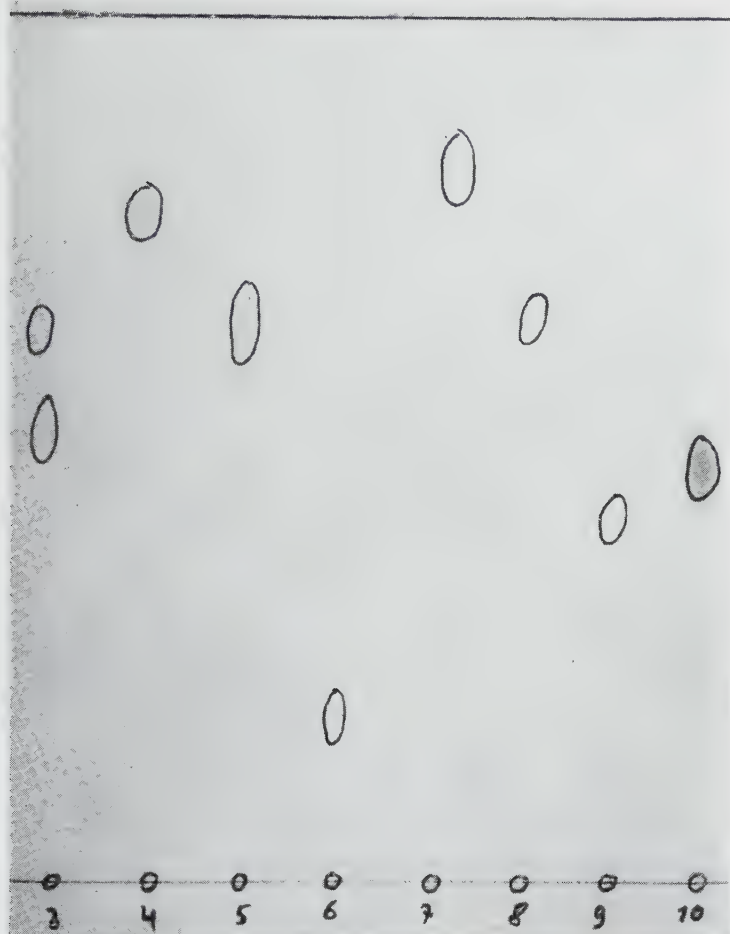


Fig. 4.

Nous présentons ensuite une photographie (fig. 5) toujours en lumière normale, d'un chromatogramme qui a été obtenu au bout de 5,10 h. Elle montre :

(a) Sept colorants qui ont été chromatographiés séparément.

1. Rouge au gras 7B.
2. Bleu au gras B.
3. Jaune au gras R.
4. Violet orasol 3R.
6. Jaune orasol GRW.
7. Rouge orasol B.

- (b) Quatre colorants mélangés : 1 + 2 + 3 + 6.
- (c) Trois colorants mélangés : 1 + 2 + 3.
- (d) Quatre colorants mélangés : 1 + 2 + 3 + 6.
- (e) Sept colorants séparément : comme au-dessus.
- (f) Quatre colorants mélangés : 1 + 2 + 3 + 6.
- (g) Quatre colorants mélangés : 1 + 2 + 3 + 6.



Fig. 5.

Ce chromatogramme montre une fois de plus que les colorants chromatographiés en mélange ou séparément, se comportent toujours de la même façon, donnent toujours les mêmes R_F , quand ils sont traités avec le même solvant et dans les mêmes conditions expérimentales.

Comme dans le cas précédant la plupart des R_F diminuent avec l'accroissement du temps, mais les différences sont moins marquées.

Tous les spots sont très nets.

Le colorant brun au gras 6577NN, présente deux spots : un de couleur brune (R_F 0,54) et l'autre de couleur jaune (R_F 0,67).

Le violet orasol 3R et le violet oracète R ont deux R_F très proches l'un de l'autre (0,67 et 0,68).

Le colorant orange orasol 2RW qui a un R_F 0,81 après une durée de 2,15 h et un R_F 0,78 après 6 heures, a aussi dans les deux cas une coloration orangée faible qui demeure sur le point de repère.

Le jaune orasol GRW et rouge orasol B, ont tous les deux le même R_F (0,87) après 2,15 h, mais se séparent nettement après 4,50 h (R_F 0,85 et 0,88) (voir fig. 3 et 4, numéros 9 et 10).

Il y a des changements appréciables de la couleur quand on traite les spots des colorants jaune au gras R, violet oracète R, bleu au gras B et rubis oracète R, avec la soude aqueuse à 10 p. 100 et avec l'acide chlorhydrique à 10 p. 100.

Le jaune au gras qui reste toujours jaune en le touchant avec NaOH, devient rouge avec HCl. Le violet oracète R devient rose avec HCl. Le bleu au gras devient violet et le rubis oracète qui devient brun avec NaOH est de couleur rouge bordeaux avec HCl.

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R _F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Jaune au Gras R (Ciba)				3 2,15 h	0,59	Jaune	Brun	Jaune	Jaune bleuâtre	Jaune	Rouge
Jaune Orasol GEW (Ciba)				3,2,15 h	0,87	Jaune foncé	Brun	Jaune	Jaune bleuâtre	Jaune	Jaune
				3,4,30 h	0,85	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
Brun au Gras 6577NN (Ciba)				3 2 15 h	0,54	Brun	Rouge violacé	Brun	Brun bleuâtre	Brun clair	Brun
				3 6 h	0,67 0,52 0,64			Jaune			
Orange Orasol 2R W (Ciba)				3 2,15 h	0,81	Orange	Orange foncé	Orange	Orange bleuâtre	Orange	Orange
Violet Orasol 3R (Ciba)				3 2,15 h	0,67	Violet	Violet foncé	Violet	Violet bleuâtre	Violet	Violet
				3 6 h	0,65	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
Rouge au Gras 7B (Ciba)				3 2,25 h	0,16	Rouge violacé	Violet	Violet	Rose violacé	Violacé	Violacé
Rouge Orasol B (Ciba)				3 2,15 h	0,87	Rouge brunâtre	Rouge très foncé	Rose	Rose	Rose violacé	Rose
				3 4,50 h	0,88						
				3 6 h	0,84						
Violet Oracète R (Ciba)				3 2,15 h	0,68	Violet	Violet foncé	Violet	Violet bleuâtre	Violet	Rose
				6 h	0,65	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
Violet au Gras B (Ciba)				3 2,15 h	0,50	Bleu	Bleu foncé	Bleuâtre	Bleuâtre	Bleu	Violet
				3,6 h		Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
Rubis Oracète R (Ciba)				3,2,15 h	0,52	Brun rougeâtre	Violet très foncé	Rouge	Rose	Brun	Rouge bordeaux
				3,6 k	0,48	Id.	Id.	Id.	Ip.	Id.	Id.

Colorants pyrazoloniques. — Nous avons chromatographié :

Jaune Kiton solide 3GL (S-748 R-645), *Jaune Kiton S* (S-735 R-637), *Flavazine L* (S-732 R-636), *Flavazine S* (S-735 R-637), *Tartrazine N* (S-737 R-640).

Concentration des colorants : 0,2 p. 100. Le solvant employé :

1. Butanol	50 cm ³
Ethanol	25 »
H ₂ O	20 »
Acide formique	5 »

Le jaune Kiton S (Ciba) et le flavazine S (M. L. B.) ont donné exactement le même R_F : 0,50 après 4 heures et 0,43 après 5,15 h. Tous les deux ont la même constitution chimique et correspondent au numéro 735 dans les tables de Schultz.

Nous avons aussi chromatographié simultanément un mélange de 5 colorants et chacun des 5 séparément. On a obtenu une très belle séparation du mélange des 5 colorants dont les R_F successifs correspondent exactement au R_F des colorants chromatographiés séparément.

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R_F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Jaune Kiton solide 3GL (Ciba)	748	645	I	4 h	0,90	Jaune	Brun violacé	Jaune	Fl. brunâtre	Jaune	Jaune
				5, 15 h	0,86	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
Jaune Kiton S (Ciba)	736	637	I	4 h	0,50	Jaune	Fl. orangé	Jaune	Fl. orangé	Jaune	Jaune
				5, 15 h	0,43	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
Flavazine L (M. L. B.)	732	636	I	4 h	0,76	Jaune	Brun violacé	Jaune	Fl. brunâtre	Jaune	Jaune
				5, 15 h	0,73	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
Flavazine S (M. L. B.)	735	637	I	4 h	0,50	Jaune	Fl. orangé	Jaune	Fl. orangé	Jaune	Jaune
				5, 15 h	0,43	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
Tartrazine N (Kuhlman)	737	640	I	4 h	0,24	Jaune	Fl. orangé	Jaune	Fl. orangé	Jaune	Jaune
				5, 15 h	0,17	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.

Un autre solvant, mais moins efficace a été celui employé pour les colorants nitrosés (butanol sat. d'eau) avec addition de 3 cm³ ac. acétique pur.

Après 7 heures de chromatographie on a obtenu un R_F de 0,095 pour le jaune Kiton solide 3GL, 0,00 pour la tartrazine, 0,04 pour le jaune Kiton S, 0,39 pour la flavazine L et 0,04 pour la flavazine S.

Avec ce solvant le R_F des différents colorants est resté inférieur à celui qui avait été obtenu avec le solvant 1, et la tartrazine n'a pas bougé de son point de repère.

Tous les spots sont très nets sur notre chromatogramme, sans aucune queue, et fluorescent dans l'ultra-violet.

Nous présentons ci-dessous les photographies de deux chromatogrammes obtenus avec le solvant 1.

La figure 6 représente la photographie en ultra-violet des 5 colorants chromatographiés séparément.

Durée de la chromatographie : 5,15 h.



Fig. 6.

La figure 7 représente la photographie en lumière normale des 5 colorants chromatographiés tout d'abord mélangés, puis pris séparément. Durée de la chromatographie : 4 heures.

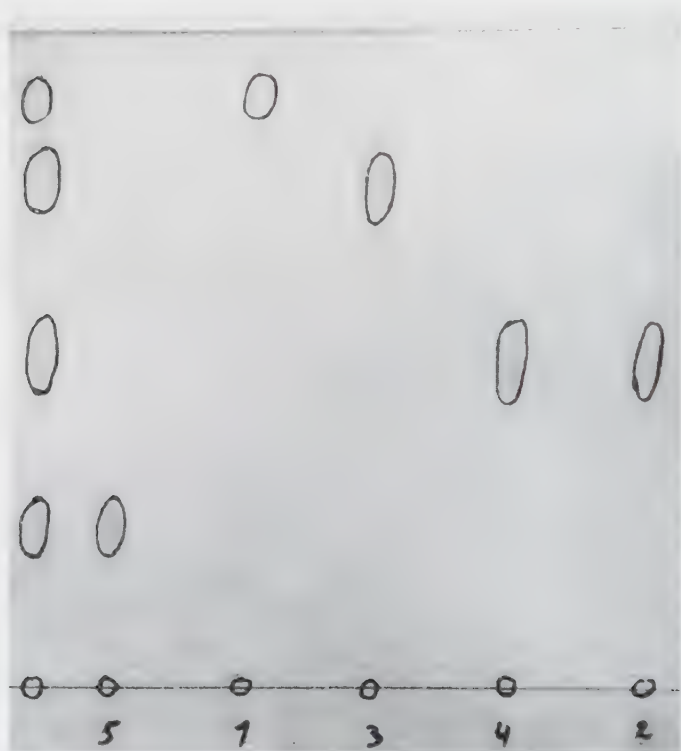


Fig. 7

Les numéros mentionnés dans les chromatogrammes correspondent aux colorants suivants :

1. Jaune Kiton solide 3GL.
2. Jaune Kiton S.
3. Flavazine L.
4. Flavazine S.
5. Flavazine N.

Les spots 2 et 4 dans la figure 7 ayant le même R_f nous avons obtenu seulement 4 spots pour le mélange de 5 colorants.

Colorants du diphenylméthane.

On a comme chromatographes l'auramine O (Ciba) et l'auramine N (Francolor). Tous les deux correspondent au numéro 752 de Schultz.

Solvant employé :

H ₂ O	60 cm ³
Alcool éthylique	35 "
Ammoniaque	5 "

Colorant	S	R	Solvant	De ce de la chromatographie	R _F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	1% p. 10% NaOH	1% p. 10% HCl
Auramine O (Ciba)	752	655	f	3-45	h 5.6%	Jaune	Jaune-vert	Jaune	Jaune-vert	Incolore	Faible coloration jaune
						Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.
Auramine N (Francolor)	752	655	f	3-45	h 5.6%	Jaune	Jaune-vert	Jaune	Jaune-vert	Incolore	Faible coloration jaune
						Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.

Comme on pouvait le prévoir, les deux colorants ont le même R_F. Tous deux donnent une fluorescence jaune dans l'ultra-violet.

Colorants du triphenylmethane. — Les colorants de ce groupe sont et les plus nombreux et les moins répandus. Ils ont qu'une seule tache dans le solvant neutre les carbonates, qui, contrairement se rapprochent des triphenylmethanes, et en employant le même solvant aux triphenylmethanes, qui sont assez faibles à donner de faibles spots et de faibles séparations.

Mais contrairement aux dérivés du xanthène, qui peuvent être chromatographiés en solution neutre, acide ou alcaline, les triphenylmethanes ne peuvent guère l'être qu'en solution alcaline.

Neon verra plus tard que se sépare, comme R_F, multiple et universel pour tous les colorants liposolubles.

C'est aussi pour cette raison qu'on ne l'applique qu'avec succès aux colorants

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R _F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traité avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Bleu de Nicholson (S. M. C.)	813	704	I	5 h	0,103 0,55 0,89	Bleu du ciel <i>Id.</i> <i>Id.</i>	Fl. bleu <i>Id.</i> <i>Id.</i>	Bleu <i>Id.</i> <i>Id.</i>	Bleu très faible <i>Id.</i> <i>Id.</i>	Rose	Bleu foncé
Bleu Victoria NB (Kuhlman)	822	729	I	5 h	0,23	Bleu	Bleu foncé	Bleu	Bleu	Rose violacé	Olive verdâtre
Violet 5BO (Ciba)	786		I	5 h	0,53	Violet	Violet	Violet	Violet	Violet faible	Jaune
Vert malachite J3E (Francolor)	754	657	I	5 h	0,69	Vert	Vert	Vert	Vert bleuâtre	Incolore	Jaunâtre
Fuchsine diamant (Ciba)	780	677	I	5 h	0,79	Rouge violacé	Rouge violacé	Rouge violacé	Rouge violacé	Incolore	Jaunâtre
Violet benzyle 4B (Ciba)	805	697	I	5 h	0,95	Violet faible	Violet faible	Violet faible	Violet faible	Incolore	Incolore
Bleu Victoria B (Ciba)	822	729	I	5 h	0,23	Bleu	Bleu foncé	Bleu	Bleu	Brun violacé	Olive verdâtre
Violet Kiton 10B (Ciba)	804	699	I	5 h	0,98	Violet bleuâtre	Violet bleuâtre	Bleuâtre	Violet bleuâtre	Violet bleuâtre	Incolore
Vert brillant cristaux (Francolor)	760	662	I	5 h	0,26	Vert	Vert	Vert	Violet bleuâtre	Incolore	Incolore
Violet benzyle 5BN (Ciba)	806	698	I	5 h	0,95	Violet	Violet foncé	Violet	Violet faible	Incolore	Bleu clair
Grenadine R (S. M. C.)	780	677	I	5 h	0,79	Rouge violacé	Rouge	Rouge violacé	Rouge violacé	Incolore	Jaunâtre

thiazoliques, orasol, oracète, au gras, aux rouges à lèvres et aux stylos à billes.

Nous avons chromatographié les colorants suivants :

1. *Bleu de Nicholson* (S-813 R-704).
2. *Bleu Victoria NB* (S-822 R-729).
3. *Violet 5BO* (S-786).
4. *Vert malachite 3JE* (S-754 R-657).
5. *Fuchsine diamant* (S-780 R-677).
6. *Violet benzyle 4B* (S-805 R-697).
7. *Bleu Victoria B* (S-882 R-729).
8. *Violet Kiton 10B* (S-804 R-699).
9. *Vert brillant cristaux* (S-760 R-662).
10. *Violet benzyle 5BN* (S-806 R-698).
11. *Grenadine R* (S-780 R-677).

Concentration des colorants : 0,1 p. 100. Solvant employé :

1. H ₂ O	60 cm ³
Alc. éthylique.	25 »
Acétate d'éthyle	12 »
Ammoniaque	3 »

Le bleu Victoria NB et le bleu Victoria B, représentent un seul colorant, mais préparés par deux maisons différentes. Ils ont le même R_F (0,23) et tous les deux laissent sur le point de repère du chromatogramme, une tache bleue qui ne bouge pas durant toute la durée de la chromatographie. Une très faible traînée peut être aperçue entre le point de repère et le spot (R_F 0,23).

Au commencement de la chromatographie on aperçoit une tache de couleur bleu-violet qui se déplace, et une autre tache de couleur brune qui ne bouge pas. A la fin de la chromatographie, et après séchage, le brun devient bleu et le bleu-violet lui aussi devient bleu.

En utilisant le même solvant pour les deux colorants mais en remplaçant l'ammoniaque par 3 cm³ d'acide formique, on obtient un seul spot (R_F 0,69 après 4,30 h) et la tache du point de repère disparaît complètement. De plus, la faible traînée aperçue précédemment disparaît.

Nous présentons ci-après la photo de 11 colorants chromatographiés en lumière ordinaire (fig. 8).

Ils sont numérotés de 1 à 11 dans l'ordre mentionné ci-dessus.

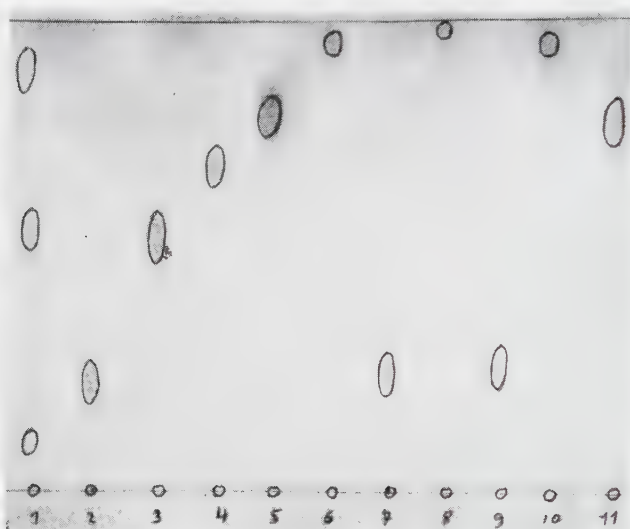


Fig. 8.

Colorants dérivés du xanthène. - Simultanément avec les xanthènes nous avons chromatographié quelques colorants vendus pour la fabrication des rouges à lèvres et des cosmétiques, à cause de leur ressemblance avec les xanthènes.

Ce sont :

l'« écarlate pour cosmétique 1542 » (Ciba),

le « rouge pour cosmétique 2542 (Ciba),

le « rouge pour lèvres 3J » (Francolor),

le « rouge pour lèvres N » (Francolor),

le « rouge pour lèvres B » (Francolor).

Nous reprendrons l'étude de ces rouges à lèvres ultérieurement, dans un autre chapitre.

Nous avons travaillé avec des solutions alcooliques dont la concentration variait de 0,1-0,25 p. 100.

Les solvants employés ont la composition suivante :

1.	H ₂ O	60 cm ³
	Alc. éthylique.	25 »
	Acétate d'éthyle	12
	Ammoniaque	3 »
2.	H ₂ O	60 »
	Alc. éthylique.	25 »
	Acétate d'éthyle	12
	Ac. formique	3 »

La plupart des colorants chromatographiés avec le solvant 2 deviennent invisibles au cours de la chromatographie et même après séchage du papier. Ils réapparaissent après traitement à l'ammoniaque.

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R_F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Eosine DWG (Ciba)	881			14,30 h	0,49	Rose	Fl. jaune vif	Rose jaunâtre	Fl. jaunâtre	Rose	Incolore
Rose bengale extra	N 891	779		14,30 h	0,49	Rouge violet	Fl. rouge violacé	Invisible	Fl. orange faible	Incolore	Incolore
					7,73			Rouge violacé	Fl. rouge violacé	Rose violacé	Incolore
Fluorescéine	880	766		14,30 h	0,78	Jaune	Fl. vert intense	Jaune	Fl. vert intense	Jaune orange	Jaune
Phénolphtaléine	879	764		14,30 h	0,92	Invisible	Invisible	Invisible	Invisible	Rouge violacé	Incolore
O-crésolphtaléine				14,30 h	0,96	Id.	Id.	Id.	Id.	Violet intense	Id.

Au-dessus du spot de l'éosine, il y a une petite auréole d'une couleur plus faible que le spot même, qui est caractéristique pour toutes les éosines. Cette auréole se sépare du spot quand on emploie le solvant n° 2 donnant un R_F différent.

Le rose bengale N extra donne deux R_F : 0,49 et 0,73. Le premier spot (0,49) n'est pas visible en lumière du jour mais on l'aperçoit en lumière ultra-violette. Il correspond à l'éosine et représente sans doute un mélange de deux colorants.

De même, en observant la tache du rose bengale en lumière ultra-violette avant toute chromatographie, on peut distinguer deux couleurs : un rouge-violet au centre de la tache et tout autour, une mince auréole de couleur rose ressemblant à celle de l'éosine.

Les spots de la phénolphtaléine, de l'O-crésolphtaléine sont visibles durant toute la chromatographie, mais disparaissent et deviennent invisibles lorsque le papier est retiré du solvant.

On peut les faire réapparaître en traitant le papier avec l'ammoniaque ou avec une solution alcaline.

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R _F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Eosine JE (Poirier)				14,30 h	0,54	Rose violacé	Fl. orangé	Rose	Fl. jaunâtre	Rose	Incolore
				24,30 h	0,77			Rose	Fl. rose jaunâtre		
					0,84			Rose pâle	Fl. jaune faible		
Eosine 499 exempt de sel (Ciba)				14,30 h	0,54	Rose	Fl. jaune vif	Rose	Fl. jaunâtre	Rose	Incolore
				24,30 h	0,77			Rose	Fl. rose jaunâtre		
					0,84			Rose pâle	Fl. jaune faible		
Eosine DWC (Ciba)	88I			14,30 h	0,54	Rose	Fl. jaune vif	Rose jaunâtre	Fl. jaunâtre	Rose	Incolore
				24,30 h	0,77			Rose	Fl. rose jaunâtre		
					0,84			Rose pâle	Rose jaunâtre		
Rose bengale N extra	89I	779		14,30 h	0,54	Rouge violet	Fl. violacé	Invisible	Fl. orangé faible	Incolore	Incolore
					0,82			Rouge violacé	Fl. rouge violacé	Rose violacé	Incolore
				24,30 h	0,77			Invisible	Fl. rose violacé		
					0,28			Rouge violacé	Fl. rose violacé		
Ecarlate pour cosmétique 1542 (Ciba)				14,30 h	0,54	Orange	Fl. orangé	Invisible	Fl. rose pâle	Incolore	Incolore
					0,66			Brunâtre	Fl. jaune verdâtre	Rose	Jaune

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R _F	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Ecarlate pour cosmétique 1542 (Ciba)					0,78			Jaunâtre	Fl. bleuâtre	Rose	Jaune
				24,30 h	0,77			Rose pâle	Fl. rose pâle		
					0,88			Brunâtre	Fl. jaune verdâtre	Rose	Jaune
Rouge pour cosmétique 2542 (Ciba)				14,30 h	0,73	Rouge violacé	Fl. orangé	Invisible	Fl. rose violacé	Incolore	Incolore
					0,86			Rouge violacé	Fl. rouge violacé vif		
				24,30 h	0,59			Invisible	Fl. rose violacé	Incolore	Incolore
					0,35			Rose violacé	Fl. rouge violacé vif	Rose	Incolore
Eosine J extra (St. Fons)		768		14,30 h	0,54	Rose	Fl. rose	Rose pâle	Fl. jaunâtre	Rose	Incolore
				24,30 h	0,77			Id.	Fl. rose jaunâtre		
					0,84			Invisible	Fl. jaune faible		
Eosine JJF (Manufacture Lyonnaise)		763		14,30 h	0,54	Rose	Fl. rose	Rose pâle	Fl. jaunâtre	Rose	Incolore
				2	0,77			Id.	Fl. rose jaunâtre		
					0,84			Invisible	Fl. jaune faible		
Laque d'Eosine				14,30	0,54	Rose	Fl. rose	Rose pâle	Fl. jaunâtre	Rose	Incolore
				24,30 h	0,77			Id.	Fl. rose	Rose	Incolore

Avec le solvant n° 1, les spots de l'éosine se trouvent presque au milieu de la distance séparant les points de repère et le front du solvant. Avec le solvant n° 2, les spots montent plus haut et se séparent en deux, donnant deux R_F différents.

La fluorescence des éosines dans l'ultra-violet varie aussi avec le solvant. Elles sont beaucoup plus roses quand on chromatographie avec le solvant n° 2 (en solution acide).

Etant donné que nous avons obtenu pour toutes les éosines le même R_F (dans les mêmes conditions opératoires) nous pouvons conclure que la présence d'halogènes ou de dérivés nitrés, méthylés ou éthylés ne modifie pas le R_F .

L'influence du solvant sur le rose bengale N et le « rouge pour cosmétique 2542 » est très caractéristique.

Avec le solvant n° 1, le rose bengale N donne deux spots : l'un, invisible en lumière du jour mais visible dans l'ultra-violet (R_F 0,54) — correspondant à celui des éosines — le deuxième, coloré en rouge violacé (R_F 0,82).

Avec le solvant n° 2, le spot invisible monte encore une fois à la hauteur des éosines (R_F 0,77) et le deuxième spot rouge violacé ne le dépasse pas comme avec le solvant n° 1, mais au contraire, il reste beaucoup plus bas.

Le même phénomène se produit avec le rouge pour cosmétique 2542.

Les deux solvants donnent deux spots pour chaque colorant : l'un visible, l'autre invisible.

Avec le solvant n° 1, le spot invisible est au-dessous du visible, avec le solvant n° 2, la position des deux spots est inversée.

L'écarlate pour cosmétique 1542 se sépare en trois spots avec le solvant n° 1, l'un d'eux correspondant à celui des éosines.

Avec le solvant n° 2, il se sépare en deux spots, plus colorés que dans le premier cas, l'un d'eux correspondant également à celui des éosines.

Il n'y a aucun doute que chacun des deux colorants « pour cosmétiques » est un mélange de colorants qui contiennent aussi des éosines.

Nous avons aussi chromatographié trois différents colorants « pour rouge à lèvres » (Francolor) simultanément avec une fluorescéine, une érythrosine B, une éosine et une rhodamine B.

L'érythrosine B (Ciba) donne avec le solvant n° 1, deux spots : R_F 0,61 et 0,91. L'éosine donne avec le même solvant un spot de : R_F 0,61.

Sans doute l'érythrosine B est un mélange de deux colorants dont l'un est une éosine.

Avec le solvant n° 2, on aperçoit au-dessus du spot (R_F 0,24) une tache invisible à la lumière du jour (R_F 0,33) mais visible dans l'ultra-violet.

Comme dans le cas du rose bengale N et du rouge pour cosmé-

tique 2542, le solvant n° 1 et le solvant n° 2, ont un effet inverse sur le colorant.

Avec le solvant n° 1, le spot rose violacé (R_F 0,91) dépasse le spot de l'éosine et avec le solvant n° 2, le spot rose violacé (R_F 0,24) est au-dessous de l'éosine.



Fig. 9.

Comme on peut le constater, les deux spots sont très différents, pour les deux solvants.

D'après les résultats obtenus, le rouge pour lèvres 3J est un mélange de quelques colorants, dont l'un est une éosine.

Le « rouge pour lèvres N » présente un seul spot avec le solvant n° 1 0,61 et deux spots avec le solvant n° 2 0,62 et 0,69. L'éosine qui a été chromatographiée en même temps a donné exactement le même R_F .

Le « rouge pour lèvres N » se comporte comme une éosine pure. La tache de fluorescéine a en lumière ultra-violette avant la chromato-

graphie, une fluorescence vert intense, et après la chromatographie une fluorescence jaune verdâtre.

La rhodamine B donne avant et après la chromatographie une fluorescence rouge violacé intense.



Fig. 10.

Nous présentons ci-dessus les chromatogrammes des colorants photographiés en lumière ultra-violette. La figure 9 représente la chromatographie des colorants suivants :

- Erythrosine B.
- Eosine 490 exempte de sel.
- Rouge pour lèvres 3J.
- Rouge pour lèvres N.

Rouge pour lèvres B.
Fluorescéine et rhodamine B.
(Numérotés de 2 à 8).

La chromatographie a été faite avec le solvant n° 1.

Sur la figure 10 les mêmes colorants ont été chromatographiés avec le solvant n° 2, puis traités par l'ammoniaque, après séchage du papier, pour faire apparaître les spots.

Nous avons ensuite chromatographié simultanément un mélange de rose bengale N et d'érythrosine B, un mélange d'érythrosine B, de rose bengale N et d'éosine 499 exempté de sel et, séparément chacun des trois colorants.

Les trois colorants se sont bien séparés et ont donné de beaux spots tant avec le solvant n° 1, qu'avec le solvant n° 2.

Dans un travail récent, publié par O. A. Valenciano et A. Ibarra⁵⁴, les auteurs décrivent une séparation qu'ils ont obtenue avec un mélange d'érythrosine et de rose bengale.

Ils mentionnent un seul spot pour le rose bengale et un seul spot pour l'érythrosine.

Colorants dérivés de l'acridine. — Nous avons chromatographié les colorants suivants :

L'orange d'acridine N S-902 R-788. La phosphine R S-910 R-793.
L'orange d'acridine (S. M. C.). L'acridine brevetée R (Ciba).

Concentration des colorants : 0,2 p. 100. Solvant employé :

1. Alc. butylique.	25 cm ³
Alc. éthylique.	25 "
H ₂ O	45 "
Ac. formique pur.	5 "

L'orange d'acridine N (Kuhlman) et l'orange d'acridine (S. M. C.) sont tous les deux le même colorant et ont le même R_F 0,85.

L'acridine brevetée R (Ciba) donne deux spots dont l'un a une fluorescence rose R_F 0,90 et l'autre une fluorescence jaune verdâtre pâle R_F 0,96.

La phosphine R donne un seul spot qui correspond exactement au spot R_F 0,90 de l'acridine brevetée R.

Les quatre colorants laissent sur le point de repère une très faible coloration, presque invisible, mais qu'on peut apercevoir en regardant le papier par transparence.

⁵⁴ O. A. VALENCIANO et A. IBARRA, *Revista de la asociacion bioquimica Argentina*, 1956, **21**, 141-147.

Colorants dérivés de la quinoléine. — Nous avons chromatographié le jaune de quinoléine.

Concentration du colorant : 0,2 p. 100. Solvant employé :

1. H ₂ O	50 cm ³
Ale. éthylique.	45 »
Ac. formique pur.	5

Le spot obtenu est très net et sans trace de queue.

Il devient incolore par traitement avec la soude à 10 p. 100 et jaune verdâtre avec l'acide chlorhydrique à 10 p. 100.

Colorants thiazoliques. — Nous avons chromatographié :

Une primuline (sans marque), la primuline jaune de Bayer, la flavine brillante T de Ciba qui correspond à la thioflavine T et le jaune Kiton brillant FF de Ciba qui correspond à la thioflavine S.

Toutes les solutions ont été faites à 0,2 p. 100, excepté celle du jaune Kiton brillant FF, dont la concentration était de 0,1 p. 100.

Solvants :

1. H ₂ O	60 cm ³
Ale. éthylique.	25
Acétate d'éthyle	12
Ammoniaque	3 »
2. H ₂ O	60 »
Ale. éthylique.	25 »
Acétate d'éthyle	12
Ac. formique pur.	3 »

La tache de primuline n'a pas bougé de son point de repère, mais à quelques millimètres de hauteur, on observe un spot d'une couleur différente de la tache initiale (R_F 0,035 avec le solvant n° 1 et R_F 0,059 avec le solvant n° 2).

Dans l'ultra-violet on observe une troisième tache d'une fluorescence bleue dont le R_F est 0,45 pour le solvant n° 1 et 0,67 pour le solvant n° 2 (non mentionné dans le tableau ci-dessus).

La flavine brillante T présente deux R_F différents :

0,56 avec le solvant 1
0,78 avec le solvant 2.

De plus, on observe en lumière ultra-violette, sur le point de repère, une très petite tache, d'une fluorescence jaune verdâtre avec le solvant n° 1 et jaune bleuâtre avec le solvant n° 2.

Très probablement, la flavine brillante T est un mélange de deux colorants car la tache de ce colorant présente, avant d'être chromato-

graphiée, une double fluorescence : au centre une fluorescence brun verdâtre et sur la marge, une fluorescence vert intense.

Le jaune Kition brillant FF, donne un R_f 0,83 avec le solvant n° 1 et 0,87 avec le solvant n° 2.

Colorants oxaziniques. — Nous avons chromatographié le Bleu Mel-dola M et le Bleu Nouveau RS.

Il résulte de notre expérience que ces deux colorants sont identiques. Les solutions ont été faites à 0,2 p. 100 et le solvant employé fut :

1. H ₂ O	70 cm ³
Ale. propylique	28 »
Ac. formique	2 »

Colorants thiaziniques. — Pour la chromatographie des colorants thiaziniques, nous avons employé le même solvant que pour les oxaziniques.

Colorant	S	R	Solvant	Durée de la chromatographie	R_f	Couleur de la tache avant chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie		Couleur de la tache après chromatographie en lumière du jour traitée avec	
						en lumière du jour	en ultra-violet	en lumière du jour	en ultra-violet	10 p. 100 NaOH	10 p. 100 HCl
Bleu méthylène BZ (Francolor)	1 038	922	1	1,30 h	0,39	Bleu foncé	Bleu foncé	Bleu verdâtre	Bleu pâle	Violet	Violet pâle
					0,84			Violet	Violet faible	Violet	Bleu pâle
Bleu méthylène (i. conc. (Ciba))	1 038	922	1	1,30 h	0,39	Bleu foncé	Bleu foncé	Bleu verdâtre	Bleu pâle	Violet	Bleu pâle
Vert méthylène NB (Kuhlman)	1 040	924	1	1,30 h	0,60	Vert olive	Bleu violacé	Bleuâtre	Bleu violacé	Brun	Bleuâtre
Vert méthylène (S. M. C.)	1 040	924	1	1,30 h	0,60	Vert	Bleu noir	Bleu verdâtre	Bleu pâle	Brun violacé	Bleuâtre
Bleu thionine G (S. M. C.)	1 042	926	1	1,30 h	0,95	Bleu	Bleu foncé	Bleu ciel	Bleu pâle	Violet	Bleuâtre

Le bleu de méthylène BZ donne deux taches de couleurs différentes : l'une bleu verdâtre (0,39) et l'autre (0,84) violette.

C'est donc un mélange de bleu méthylène pur avec un colorant violet.

Le bleu de méthylène G Conc. ne donne qu'une tache dont le R_F est 0,39. C'est un corps pur.

Le vert de méthylène NB et un autre vert de méthylène ont tous deux le même R_F 0,60. Le deuxième est plus foncé, le premier présente de faibles traces d'un autre corps.

Le spot du bleu de thionine G dont le R_F est 0,65 devient violet quand on le traite avec la soude.

Colorants aziniques. — Nous avons chromatographié quatre safranines provenant de quatre maisons différentes :

Safranine J (Francolor), safranine FF (Bayer), safranine (R. A. L.), safranine OOF (Kalle).

Les solutions des colorants ont été faites à 0,1 p. 100. Les solvants sont :

1. H ₂ O	70 cm ³
Ale. isopropylique	25
Ac. acétique	5 »
2. H ₂ O	70
Ale. isopropylique	25 »
Ammoniaque	5 »

Les quatre colorants ont donné le même R_F :

0,49 avec le solvant 1,

0,23 avec le solvant 2.

En lumière ultra-violette ils ont une belle fluorescence rose lilas.

Après traitement par HCl à 10 p. 100 ils deviennent violet.

*
* *

Dans un travail que nous venons d'exposer, nous n'avons pu évidemment, étudier toutes les familles de colorants et, dans chaque famille, tous les colorants.

Mais dans le champ de nos investigations, nous avons toujours trouvé pour chaque famille, un solvant permettant d'obtenir, pour les colorants étudiés, des spots parfaitement nets dont le R_F fut déterminé dans des conditions bien établies.

Cette valeur du R_F et la couleur de la tache observée en lumière ordinaire puis en lumière ultra-violette de Wood, telle quelle ou après addition d'un alcali ou d'un acide dilué, permettaient l'identification chimique du colorant chromatographié.

Dans chaque famille de colorants les échantillons choisis furent étudiés d'abord séparément ; mais nous avons ensuite vérifié que dans un mélange, chaque colorant, quelle que soit sa concentration, se comportait comme s'il était seul.

Nous avons voulu chercher si cette méthode de chromatographie sur papier pourrait être utilisée avec la même certitude pour identifier les colorants entrant dans la constitution des substances les plus diverses et nous avons choisi comme matériel de travail des bâtons de rouges à lèvres et des encres.

L'identification des colorants des encres (encres ordinaires, stylographiques ou des crayons à bille) et des produits de beauté sont des problèmes souvent posés dans le domaine de la police scientifique.

CHAPITRE II

Applications.

Les matières colorantes des rouges à lèvres. - Notre but a été de trouver une méthode qui permettrait de comparer ou d'identifier les colorants de différents rouges à lèvres, déposés sur un objet quelconque, bouts de cigarettes, mouchoirs, par exemple.

J. Deshusses et P. Desbaumes ⁽⁵⁵⁾ proposent une méthode assez compliquée pour obtenir, après purifications successives, une solution concentrée de rouge à lèvres que l'on soumet alors à une chromatographie sur papier.

Pour les taches de rouge à lèvres sur les bouts de cigarettes, cette méthode nécessite trop de manipulations et il est rare d'obtenir le minimum de colorant nécessaire, pour la chromatographie.

Nous avons mis au point une méthode beaucoup plus simple qui a donné de très bons résultats.

Nous opérons de la façon suivante :

Des traits de rouges à lèvres de différentes marques commerciales sont tracés sur un papier.

Une partie du trait, découpée (3-5 mm), est mise dans un tube à hémolyse. Après addition de 1 cm³ de NH₄OH à 10 p. 100 la solution se colore à l'ébullition. Après évaporation de la solution (pas tout à fait totale) le résidu est repris par 0.5 cm³ de NH₄OH à 10 p. 100 et de nouveau évaporé jusqu'à ce qu'il ne reste plus que deux ou trois gouttes.

⁽⁵⁵⁾ J. DESHUSSES et P. DESBAUMES, *Mitt. Lebensmitt. und Hygiene*, 1953, **44**, 500-507.

Les gouttes colorées, introduites dans de très fines pipettes par aspiration, sont déposées sur papier pour être chromatographiées.

Les solvants utilisés sont ceux qui furent indiqués pour les xanthènes et les triphénylméthanes.

Nous avons obtenu de beaux spots, sans aucune queue pour tous les rouges à lèvres chromatographiés.

Une question se posait alors : les matières grasses contenues dans les rouges à lèvres influençaient-elles le R_f des colorants ?

S'il en était ainsi, il fallait, avant toute chromatographie, éliminer les matières grasses.

La maison Ciba nous a permis de répondre facilement à cette question en nous procurant, avec beaucoup d'obligeance, d'une part des colorants purs, d'autre part des bâtons de rouges à lèvres préparés avec ces mêmes colorants.

Les colorants qui servirent à préparer les cinq bâtons de rouges à lèvres qui nous firent remis avec les bâtons, étaient les suivants :

1. Jaune Kiton brillant FF.
2. Erythrosine B.
3. Eosine 599 exempt de sel.
4. Mélange de 1 + 3.
5. Mélange de 1 + 2 + 3.

Nous avons tout d'abord chromatographié les trois colorants purs et le mélange des trois.

Concentration des colorants : 0,2 p. 100. Solvants employés :

1.	H ₂ O		60 cm ³
	Alc. éthylique.		25 »
	Acétate d'éthyle		12 .
	Ammoniaque		3 »
2.	H ₂ O		60 »
	Alc. éthylique.		25 »
	Acétate d'éthyle		12 »
	Ac. formique pur.		3 »

Nous avons ensuite chromatographié simultanément les trois colorants purs et les colorants extraits des 5 bâtons de rouges à lèvres par la méthode précédemment décrite.

On trouvera ci-dessous les photographies en lumière ultra-violette des chromatogrammes ainsi obtenus avec les solvants n^{os} 1 et 2 : figure 11 (solvant n^o 1), figure 12 (solvant n^o 2).

Les colorants purs et les colorants extraits des rouges à lèvres correspondent aux numéros que nous avons mentionnés ci-dessus.

Les chiffres romains des chromatogrammes représentent les colorants extraits des rouges à lèvres.

Nous avons obtenu le même R_F pour les colorants purs et pour les colorants extraits des rouges à lèvres.

Les résultats obtenus montrent que les matières grasses entrant dans la constitution des rouges à lèvres n'ont aucune influence sur le R_F des colorants.

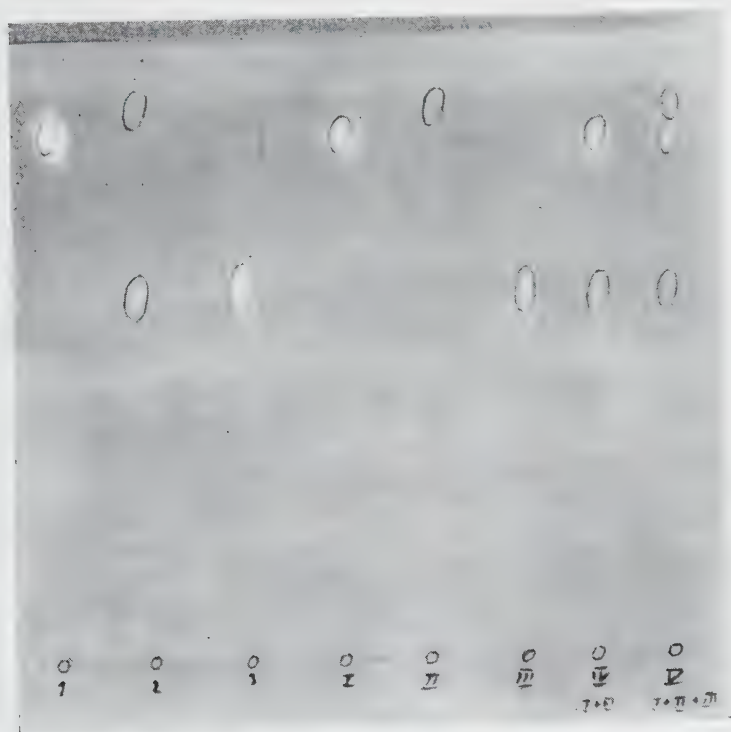


Fig. 11.

Tous les spots, dans les deux cas, sont nets et sans queue.

Une fois de plus, nous constatons donc que dans la chromatographie des colorants, le facteur décisif pour obtenir des spots nets, reste le solvant utilisé.

Différents rouges à lèvres de marques diverses ont ensuite été chromatographiés avec la même méthode.

Afin de vérifier si le papier sur lequel les marques de rouges à lèvres avaient été faites, puis découpées, n'apportait pas lui-même une fluorescence supplémentaire en lumière de Wood, nous avons chromatographié,

dans différents essais, le résultat de l'inscrutation d'un fragment de papier vierge.

Certains papiers peuvent même contenir des traces de matières colorantes décelables par la chromatographie, et les essais à blanc sont indispensables.



Fig. 11

Les matières colorantes des encres des documents manuscrits. —

Deux types d'encre sont actuellement en usage : les encres liquides, solutions aqueuses de colorants le plus souvent organiques, utilisées dans les stylographes ou avec un porte-plume ordinaire et les encres pâteuses des stylos à bille.

1. LES ENCRES LIQUIDES. — L'analyse des encres a toujours été un des problèmes les plus difficiles à résoudre.

La plupart des experts se contentent d'un examen visuel, macro et microscopique, en lumière visible ou ultra-violette, qu'ils complètent

parfois par une photographie infra-rouge, et par une étude chimique élémentaire consistant en touches faites directement sur le document avec divers réactifs.

Dans quelques cas spéciaux une recherche spectrophotographique peut apporter des renseignements précieux sur les constituants ou les impuretés minérales des encres. D'autres méthodes ont été mises au point, la plupart nécessitent des prélèvements qui altèrent les documents.

Pour pallier les inconvénients de toutes ces méthodes, nous avons utilisé en 1952 ⁽⁵⁶⁾ la très élégante technique de chromatographie sur papier, pour l'étude des colorants des encres.

Depuis, d'autres importants travaux ont été faits dans ce domaine par A. W. Somerford ⁽⁵⁷⁾, E. Martin ⁽⁵⁸⁾ ⁽⁵⁹⁾, J. W. Brackett et L. W. Bradford ⁽⁶⁰⁾, A. Esposito Vitolo ⁽⁶¹⁾ ⁽⁶²⁾, B. B. Coldwell ⁽⁶³⁾.

Nos essais de chromatographie sur papier pour des colorants des encres des textes manuscrits ont été repris après notre travail sur les principaux groupes de colorants.

Voici comment nous opérons pour obtenir des gouttes de colorants à partir d'un trait d'encre. Il faut tout d'abord, avec une très fine pipette, déposer une gouttelette d'une solution acide (acide oxalique à 3 p. 100) et alcaline (ammoniaque à 10 p. 100) sur un tracé du texte à expertiser, afin de savoir si l'on est en présence d'un colorant acide ou basique. Suivant le cas, on utilise le réactif acide ou alcalin qui dissout le mieux l'encre.

On trempe dans ce réactif un capillaire très fin, de façon que le liquide y monte sur une hauteur d'environ 1 cm.

L'extrémité inférieure du capillaire ainsi chargée de réactif est appliquée sur la partie du trait d'encre que l'on veut étudier, et par un mouvement alternatif d'aspiration et de refoulement on amène le réactif en contact avec l'encre, jusqu'à ce que sa coloration par le colorant dissout soit assez intense.

Après avoir réintroduit doucement tout le liquide dans le capillaire en l'aspirant, on place la gouttelette colorée que celui-ci contient aux endroits marqués sur le papier chromatographique, en s'efforçant d'obtenir une diffusion aussi faible que possible. Au besoin, on peut

⁽⁵⁶⁾ Charles SANNIÉ et Zeev MOLOSTER, *Revue de Criminologie et de Police technique*, 1952, **6**, n° 2.

⁽⁵⁷⁾ A. W. SOMERFORD, *Revue Intern. de Police Criminelle*, 1952, n° 59.

⁽⁵⁸⁾ E. MARTIN, *Revue Intern. de Police Criminelle*, 1954, n° 81.

⁽⁵⁹⁾ E. MARTINE, *Ibid.*, 1955, n° 91.

⁽⁶⁰⁾ J. W. BRACKETT et L. W. BRADFORD, *The Journal of Criminal law, Criminology and Police Sci.*, 1955, **43**, n° 4.

⁽⁶¹⁾ A. ESPOSITO VITOLO, *Minerva medicolegale e arch. antropol. Criminale*, 1952, **72**, 59.

⁽⁶²⁾ A. ESPOSITO VITOLO, *Minerva medicolegale*, 1953, **73**.

⁽⁶³⁾ B. B. COLDWELL, *Analyst*, 1955, **80**, 68-77.

faire sécher la première goutte déposée et augmenter la quantité de colorant en y remettant une ou plusieurs autres gouttes.

Avec plusieurs encres de marques différentes, nous avons d'abord préparé des échantillons d'écriture que nous avons laissé sécher, puis les colorants ont été dissous suivant la méthode décrite ci-dessus.

Les solvants mis au point cette fois, nous ont permis d'obtenir des spots nets et des R_F bien déterminés pour les colorants entrant dans la constitution des encres étudiées.

2. LES ENCREs DES STYLOS A BILLE. — Les encres des stylos à bille sont généralement constituées par des colorants basiques, dissous dans un solvant organique et additionnés d'un liant à base de résines.

Elles sont facilement solubles dans les solvants organiques et en particulier dans l'alcool et l'acétone.

Toutes ces encres sont probablement du même type, mais leur composition peut varier d'une marque à l'autre.

Elles ont des couleurs et des nuances différentes.

Les caractéristiques des encres de stylos à bille ont été exposées et décrites par J. Mathyer ⁽⁶⁴⁾ et, dernièrement dans deux articles publiés par R. Mally ⁽⁶⁵⁾ ⁽⁶⁶⁾.

C. Brown et P. J. Kirk ⁽⁶⁷⁾ ont analysé les encres de stylos à bille par chromatographie circulaire. B. B. Coldwell ⁽⁶⁸⁾ a employé la chromatographie descendante en précisant que la plupart des colorants de stylos à bille chromatographiés ont présenté des traînées.

Comme dans le cas des encres liquides, notre but a été d'extraire les colorants des documents écrits et de les soumettre à l'analyse chromatographique.

Avec différents stylos à bille nous avons d'abord préparé des échantillons d'écriture dont nous avons extrait les colorants de la façon suivante :

Selon l'intensité du trait, nous avons découpé avec des ciseaux, soit une lettre, soit une virgule ou même un point du texte.

La partie découpée fut introduite dans un tube à hémolyse puis additionnée de 1 cm³ d'alcool éthylique ; à l'ébullition le colorant passe en solution.

Avant l'évaporation complète de l'alcool, le résidu est repris par 0,5 cm³ d'alcool éthylique et de nouveau évaporé jusqu'à ce qu'il ne reste que quelques gouttes.

⁽⁶⁴⁾ J. MATHYER, *Revue Intern. de Police Criminelle*, 1950, n° 43.

⁽⁶⁵⁾ R. MALLY, *Kriminalistik*, 1956, 55.

⁽⁶⁶⁾ R. MALLY, *Kriminalistik*, 1956, 130.

⁽⁶⁷⁾ C. BROWN et P. J. KIRK, *Criminal law, Criminology and Police Sci.*, 1954, 45, n° 3.

⁽⁶⁸⁾ B. B. COLDWELL, *Analyst*, 1955, 80, 68-77.

Les quelques gouttes colorées ainsi obtenues sont introduites dans un tube capillaire et déposées sur le papier chromatographique.

Afin de vérifier si le papier qui supporte l'encre ne renferme aucun colorant susceptible de fausser les résultats, il est indispensable de prélever un fragment de papier vierge de même importance que les autres prélèvements et de faire une expérience à blanc sur le même chromatogramme.

Les colorants entrant dans la composition des stylos à bille se dissolvant dans l'alcool, nous avons employé les deux solvants qui peuvent être considérés comme universels pour tous les colorants liposolubles :

1. H ₂ O	60 cm ³
Alc. éthylique.	25 »
Acétate d'éthyle	12 »
NH ₄ OH	3 »
2. H ₂ O	60 »
Alc. éthylique.	25 »
Acétate d'éthyle	12 »
Acide formique	3 »

La plupart des encres de même couleur ont le même R_F , ce qui signifie que les colorants employés pour la préparation des encres de stylos à bille ne diffèrent pas sensiblement d'une marque à l'autre.

Nous avons aussi chromatographié avec les mêmes solvants des encres de stylos à bille fabriqués vers 1952.

Les spots obtenus sont très nets.

CONCLUSION

Nous nous étions proposé d'utiliser la chromatographie sur papier comme méthode d'analyse des matières colorantes.

En 1952 nous avons utilisé avec succès la chromatographie sur papier pour la comparaison des encres à base de colorants organiques. Toutefois nous n'avons pas toujours réussi à obtenir la séparation parfaite des différents colorants d'un mélange, parce que les spots obtenus avaient des queues. La détermination du R_F des différents colorants restait le plus souvent douteuse.

Il fallait donc entreprendre une mise au point de cette méthode et pour cela trouver pour chaque famille, un solvant qui permettrait d'obtenir une bonne séparation des colorants sur le chromatogramme sous forme de taches circulaires sans queues, dont le R_F serait facile à déterminer.

Ne pouvant étudier toutes les familles de colorants, nous donnons ci-dessous le nom de celles ayant retenu notre attention :

Colorants nitrosés.
Colorants nitrés.
Colorants azoïques.
Colorants pyrazoloniques.
Colorants du diphenylméthane.
Colorants du triphenylméthane.
Colorants dérivés du xanthène.
Colorants dérivés de l'acridine.
Colorants dérivés de la quinoléine.
Colorants thiazoliques.
Colorants oxaziniques.
Colorants thiaziniques.
Colorants aziniques.

Ces familles comprennent la plupart des colorants hydrosolubles et liposolubles.

Après bien des essais infructueux, nous avons réussi à trouver, pour chaque famille de colorants, un solvant permettant d'obtenir, pour tous les colorants étudiés, des spots parfaitement nets.

Ces solvants sont des mélanges d'alcool ou d'éther-sels convenablement purifiés, dont les proportions relatives ont été soigneusement déterminées pour obtenir un maximum d'efficacité. Ils sont généralement acidifiés par de l'acide acétique ou de l'acide formique ou alcalinisés par de l'ammoniaque.

Avec ces solvants et dans les conditions bien établies (température, durée de la chromatographie, solvants convenablement purifiés et en utilisant le même papier), nous avons déterminé le R_F des colorants chromatographiés.

Nous avons indiqué aussi la couleur de la tache obtenue telle quelle apparaît en lumière ordinaire et en lumière ultra-violette de Wood, puis ses variations après attaque par un alcali ou un acide dilué.

Que le colorant en solution soit seul ou mélangé avec d'autres de la même famille, le résultat fut toujours le même.

Nous avons donné très souvent des photographies de chromatogrammes en lumière ordinaire et en lumière de Wood.

Au cours de ces essais nous avons pu constater que le R_F d'un colorant donné, restait invariant, que ce colorant soit fabriqué à des époques différentes par un seul fabricant ou qu'il le soit par des maisons différentes.

Ce long travail nous a montré que dans une chromatographie de matières colorantes la présence d'un spot avec queue n'était jamais causée par une impureté des colorants mais était due à un mauvais choix du solvant.

Après avoir étudié les colorants des différents groupes isolés ou mélangés entre eux, nous les avons fait intervenir dans des mélanges

complexes employés dans des produits d'utilisation courante tels que rouges à lèvres, encres stylographiques ou encres des stylos à bille.

En utilisant une méthode d'extraction très simple, sans séparation spéciale des matières colorantes, nous avons réussi à les identifier par la méthode chromatographique précédemment mise au point.

Pour l'étude des colorants de rouges à lèvres et d'encres de stylos à bille, nous avons utilisé deux solvants qui peuvent être considérés comme universels pour tous les colorants liposolubles.

On pourrait les utiliser pour les colorants des cosmétiques et ceux des produits alimentaires gras.

Ce sont : solvant n° 1 :

1. H ₂ O	60 cm ³
Alc. éthylique.	25 »
Acétate d'éthyle	12 »
Ammoniaque	3 »

Solvant n° 2 :

2. Le même que le n° 1, mais où l'ammoniaque est remplacée par l'acide formique (3 cm³).

Pour l'identification ou la séparation d'un mélange de colorants liposolubles, l'utilisation successive de ces deux solvants n'est pas inutile ; dans le cas de chromatogrammes obtenus avec le solvant n° 2, il faut après séchage, le soumettre à l'action des vapeurs ammoniacales qui peuvent faire réapparaître certaines taches.

Il faut noter que l'identification d'un colorant sera d'autant plus sûre que l'on aura pu chromatographier simultanément le colorant de référence.

Dans la dernière partie de notre travail nous donnons plusieurs exemples d'analyse chromatographique de rouges à lèvres de marques différentes.

La méthode donne d'excellents résultats avec les traces de rouges à lèvres déposées sur des bouts de cigarettes.

L'étude des encres stylographiques a été faite avec des encres de marques connues, de couleurs bleue, noire, bleu noir, violette, verte et rouge.

La petite quantité de colorant nécessaire correspond à celle d'un trait d'encre pris sur un texte manuscrit.

Nous avons étudié les encres de plusieurs stylos à bille de marques différentes et nous avons constaté, dans une même teinte, le peu de diversité des colorants utilisés par les fabricants.

L'utilisation de plus en plus courante des stylos à bille rend donc de plus en plus difficile l'expertise des textes manuscrits.

Si nous résumons nos conclusions nous pourrions dire qu'à condition d'utiliser un solvant approprié, il est possible de résoudre par la méthode chromatographique un grand nombre de problèmes d'analyse de matières colorantes, même si celles-ci entrent dans la composition de substances complexes.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

La chromatographie en phase vapeur.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 15 décembre 1957.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. PÉRÈS.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

JEAN SARRAILH.

